Rev. Écol. Biol. Sol, 1987, **24** (4) : 549-558.

Les mucus intestinaux de Ver de terre moteur de leurs interactions avec la microflore

PAR

A. MARTIN [1], J. CORTEZ [2], I. BAROIS [1 et 3] et P. LAVELLE [1]

(1) Laboratoire d'Écologie, U.A. 258, École Normale Supérieure 46, rue d'Ulm, 75230 Paris Cedex 05

(2) C.E.P.E. Louis Emberger, Département d'Écologie du Sol C.N.R.S., B.P. 5051, 34033 Montpellier Cedex

(3) Instituto de Ecologia, A.C. Apartado Postal 18-845 Delegacion Miguel Hidalgo, 11800 Mexico D.F.

Synopsis: Analysis of the intestinal mucus of three tropical geophagous earthworm species showed clear interspecific variations. This secretion always consists in energetic and easily metabolisable compounds, which soon desappear during the gut transit, probably digested by the ingested microorganisms. The intestinal mucus is considered to be the mediator of a priming-effect between the earthworm and the soil microflora.

Keywords: Earthworm, Mucus, Assimilable Organic Matter.

INTRODUCTION

Les sols des savanes tropicales humides africaines se caractérisent par leur pauvreté en matière organique. Ce stock humique, formé de molécules hautement polymérisées et intimement liées aux argiles, constitue de plus une ressource énergétique difficilement accessible aux organismes du sol (SCHAEFER, 1974).

Pourtant, l'accès aux nutriments bloqués dans les composés humiques stables, est rendu possible par l'existence de systèmes de déblocage strictement localisés dans le temps et dans l'espace, déclenchés par un « priming effect » (au sens de JENKINSON, 1966) : au sein de la rhizosphère et de la drilosphère (définie comme l'ensemble du sol influencé par l'activité des Vers de terre), la relance de l'activité de la microflore du sol par un apport énergétique exogène la rend capable d'exploiter des substrats auparavant inaccessibles. Le

fonctionnement de ces systèmes de déblocage aboutit donc, à l'échelle des microorganismes du sol, à l'hydrolyse des matières humiques et à l'échelle de l'écosystème, à l'accélération du turn-over de la matière organique (LAVELLE, 1984 ; MENAUT *et al.*, 1985).

Dans la drilosphère, l'activité des Vers de terre engendre d'importantes modifications des propriétés physico-chimiques et biologiques du sol (BHATNAGAR, 1975 ; LEE, 1983). Des études antérieures ont ainsi montré que la digestion de la terre par certaines espèces tropicales de Vers de terre géophages s'accompagnait, dans le tube digestif de l'animal et dans les turricules, d'une véritable explosion de l'activité respiratoire des microorganismes du sol ingéré (LAVELLE *et al.*, 1983 ; ZAIDI, 1985 ; BAROIS et LAVELLE, 1986 ; BAROIS, thèse d'Université, 1987).

Ces observations ont conduit à supposer l'existence d'un système mutualiste d'exploitation de la matière organique du sol, le Ver créant dans son tube digestif les conditions physiques et énergétiques favorables à l'activité des microorganismes qui, en retour, libèrent des composés assimilables par l'animal.

Le mucus intestinal produit par le Ver est supposé jouer un rôle central dans ce système comme source d'énergie déclenchant l'activité microbienne. Pour tester cette hypothèse, la matière organique hydrosoluble a été extraite, dosée et analysée aux divers niveaux du tube digestif de cinq espèces ayant des régimes alimentaires différents.

I. — MATÉRIEL ET MÉTHODE

A) Extraction et analyse quantitative des hydrosolubles.

Les espèces étudiées appartiennent à 4 des 5 catégories écologiques reconnues par BOUCHÉ (1977) et LAVELLE (1981). Quatre espèces africaines ont été récoltées à la station de Lamto (Côte d'Ivoire). *Millsonia anomala* est un endogé mésohumique d'une longueur de 15 à 20 cm pour un poids de 3 à 6 g à l'état adulte ; *Millsonia ghanensis* et *Dichogaster terrae-nigrae* sont des endogés oligohumiques de grande taille, de 30 à 50 cm, et d'un poids frais de 10 à 16 g pour le premier, 20 à 28 g pour le deuxième au stade adulte. La quatrième espèce, *Millsonia lamtoiana* est une espèce anécique, dont les adultes atteignent 40 cm de long pour un poids frais de 20 à 32 g.

Une cinquième espèce, à distribution pantropicale, *Pontoscolex corethrurus* a été récoltée à Laguna Verde (Veracruz, Mexique). C'est un endogé polyhumique qui mesure 8 cm environ au stade adulte et pèse de 0,5 à 1 g.

L'extraction des molécules hydrosolubles a été réalisée sur la terre utilisée pour l'élevage, le contenu intestinal des Vers et les turricules frais, selon deux méthodes différentes :

— une extraction simple à l'eau chaude éventuellement additionnée de quelques gouttes d'ammoniaque pour améliorer la dispersion des molécules organiques ;

— une extraction à l'eau chaude suivie d'une précipitation des molécules de nature polysaccharidique (généralement de haut poids moléculaire) par un mélange acétone-alcool.

Dans les deux cas, les contenus intestinaux sont extraits sur des Vers tués par immersion pendant une seconde dans l'eau bouillante. Le Ver est sectionné en arrière des glandes de Morren et la partie postérieure est découpée en trois (A, M, P) ou quatre (I, II,

III, IV) parties égales. Après avoir laissé s'écouler le liquide cœlomique sur un papier filtre, on prélève le contenu intestinal directement, par simple pression ou, après une dissection rapide, en le décollant à l'aide d'une spatule.

Les turricules frais ont été recueillis dès leur émission par le Ver et la terre non ingérée est utilisée comme témoin.

Les échantillons de terre sont mélangés avec de l'eau chaude à 60° C (50 mg de terre / 10 ml d'eau) et agitée pendant une heure. La suspension est ensuite filtrée sous vide (filtre de cellulose ou de verre) ; les éléments insolubles retenues par le filtre sont séchés (80° C - 24 H) et pesés. Le filtrat est lyophilisé directement (extraction simple), ou précipité par addition d'un mélange d'acétone-alcool (10 ml de filtrat dans 40 ml du mélange acétone-alcool, v/v = 1/1) maintenu à 4° C. Dans ce cas, après agitation et centrifugation (8000 t / 10 mn), le culot contenant les molécules hydrosolubles précipitées est lyophilisé et le surnageant renfermant des molécules non osidiques est éliminé.

Les hydrosolubles lyophilisés sont pesés et leur poids, rapporté à celui du matériel initial (terre sèche).

B) Analyse qualitative des hydrosolubles.

Ces analyses ont été réalisées pour trois des quatre espèces africaines : *M. anomala, M. ghanensis* et *D. terrae-nigrae* à partir des hydrosolubles obtenus par simple extraction à l'eau chaude.

1. *Teneur en glucides et protides.*

20 mg d'hydrosolubles lyophilisés sont redissous dans 20 ml de solvant (NaCl à 0,3 %) et centrifugés pour éliminer les argiles qui auraient pu subsister après filtration. Les glucides sont dosés par la méthode de DUBOIS *et al.*, 1956 et les protides par la méthode de LOWRY *et al.*, 1951.

2. *Détermination de la masse moléculaire par chromatographie sur gel.*

20 mg d'hydrosolubles extraits à l'eau chaude, sont redissous dans 2 ml de solvant et sont déposés au sommet d'une colonne (100 × 1,6 cm) de type Biogel P 60 (limites de résolution 3 000-60 000 d) et préalablement étalonnée selon la méthode de GRANATH et FLODIN (1961). Les substances éluées sont recueillies par fractions de 3 ml. Les glucides et les protides sont dosés comme précédemment sur chacune des fractions.

II. — RÉSULTATS

A) Teneurs en hydrosolubles des contenus intestinaux.

Les résultats montrent dans tous les cas une très forte teneur en molécules hydrosolubles dans l'intestin antérieur, de 80 à 120 fois supérieure à celle du témoin, selon les espèces.

De telles concentrations, qui dépassent la teneur totale en matière organique du sol ingéré, traduisent la sécrétion par le Ver d'éléments hydrosolubles à savoir les mucus intestinaux qui apparaissent comme un mousse blanchâtre après lyophilisation (Tab. I).

Très abondants dans l'intestin antérieur, ces mucus disparaissent rapidement au cours du transit intestinal : les rapports « teneur de l'intestin antérieur/teneur de l'intestin postérieur » varient de 1,4 à 10.

TAB. I

Teneurs en hydrosolubles (%) de la terre au cours du transit intestinal obtenues par deux méthodes différentes chez cinq espèces de Vers de terre tropicaux

Extraction à l'eau chaude :

	Témoin	A	M		P	Tf	% MO sol
		I	II	III	IV		
Millsonia anomala[1]...	0,06	6,70	1,40		0,90	0,34	1.50
Millsonia ghanensis[1]...	0,06	6,10	2,50		1,00	—	1.50
Dichogaster terrae-nigrae[1].....	0,06	4,80	4,80	—	0,40	—	1.50
Millsonia lamtoiana[2*].	—	3,80	4,20		2,80	—	—
Pontoscolex corethrurus[2*].....	0,12	15,90	12,80			0,43	5,00

1 : Martin, 1986
2 : Lavelle, Rangel et Kanyonyo, 1983
* : eau légèrement ammoniaquée.

Extraction à l'acétone-alcool :

	Témoin	A	M	P	Tf	% MO sol
Millsonia anomala[3].....	—	3,7	0,9	0,7	—	1.5
Millsonia lamtoiana[3].....	—	1	0,4	0,2	—	1.5
Pontoscolex corethrurus[3].	—	16,5	3,6	2,2	—	5,0

3 : Barois, 1986.

L'aspect des hydrosolubles lyophilisés change rapidement au cours du transit et ne prennent plus la forme de mousse blanchâtre ; au niveau de l'intestin postérieur ils sont compacts et de couleur brune.

B) Teneurs en glucides et protides des mucus intestinaux.

L'analyse qualitative montre que les mucus intestinaux des Vers de terre sont constitués environ pour moitié de composants glucidiques et protidiques. Ce sont, de ce fait des composés énergétiques, facilement dégradables par la microflore et de plus riches en protides ; une teneur en azote total du mucus de *P. corethurus* égale à 3 % a été par ailleurs mesurée (LAVELLE, KANYONYO et RANGEL 1981) (Tab. II et III).

TAB. II

Pourcentage en glucides du contenu intestinal chez trois espèces de Vers de terre de Lamto

	Témoin	A	M		P	Tf	Ta
		I	II	III	IV		
M. anomala.....	0,01	0,6	0,1		0,01	0,01	0,01
M. ghanensis.....	0,01	0,6	0,2		0,05	—	—
D. terraenigrae.....	0,01	0,6	0,1	0,04	0,05	—	—

TAB. III

Pourcentage en protides du contenu intestinal chez trois espèces de Vers de terre de Lamto

	Témoin	A	M		P	Tf	Ta
		I	II	III	IV		
M. anomala.....	0,007	2,4	0,2		0,2	0,04	0,004
M. ghanensis.....	0,007	2,3	0,6		0,03	—	—
D. terraenigrae.....	0,007	1,2	0,3	0,1	0,05	—	—

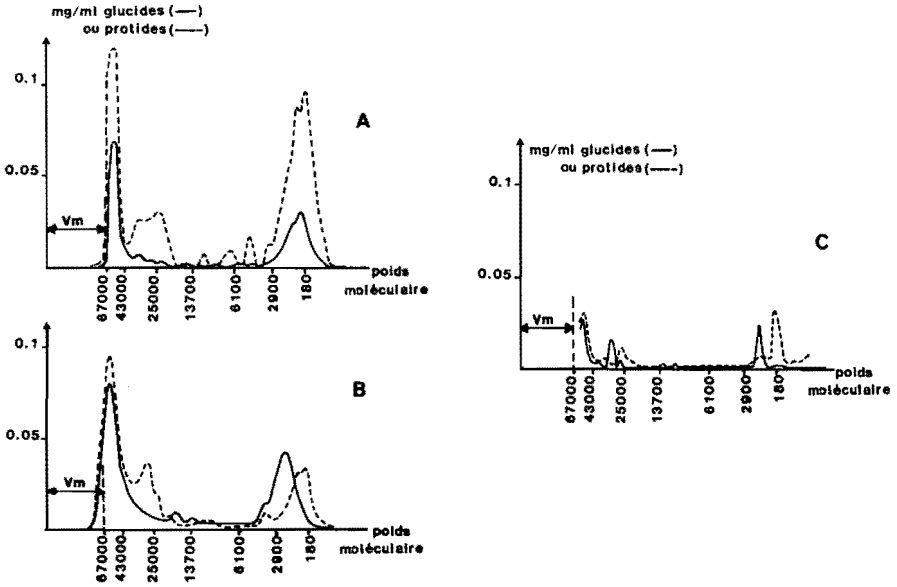

FIG. 1. — Chromatographie sur gel des hydrosolubles de l'intestin antérieur chez trois espèces de vers : A : *Millsonia anomala* — B : *Dichogaster terrae-nigrae* — C : *Millsonia ghanensis*. Vm = Volume mort de la colonne.

C) Chromatographie sur gel des mucus intestinaux.

Les hydrosolubles de l'intestin antérieur (Fig. 1) qui correspondent au mucus intestinal produit par le Ver sont principalement constitués de deux compartiments :

— des substances de masse moléculaire relativement élevée. Pour l'espèce *M. anomala*, la superposition des pics glucides et protides aux alentours de 45 000 d montre la présence d'une glycoprotéine. Un second pic protéique indique la présence d'une protéine de masse moléculaire voisine de 25 000 d Fig. 1 A).

— un ensemble de molécules organiques de faible masse moléculaire (oses, di- ou triosides, acides aminés, peptides).

Chez les deux autres espèces étudiées (*M. ghanensis* et *D. terrae-nigrae*), on observe une composition très similaire avec cependant quelques variations qui pourraient être caractéristiques des espèces Fig. 1 B et 1 C.

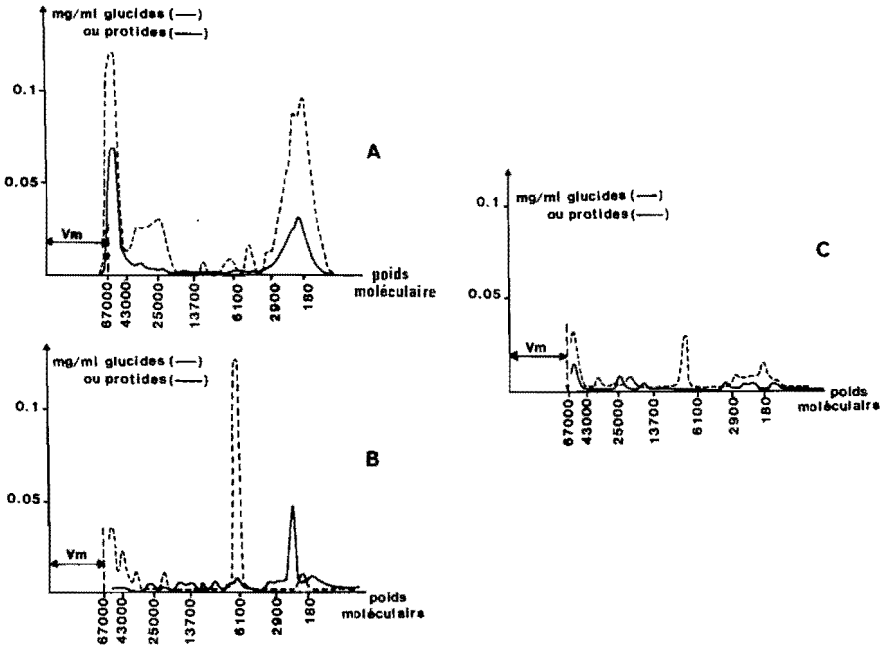

FIG. 2. — Chromatographie sur gel des hydrosolubles de l'intestin antérieur (A), moyen (B) et postérieur (C) chez *Millsonia anomala*.
Vm = Volume mort de la colonne.

L'analyse chromatographique des hydrosolubles extraits du contenu des intestins moyen et postérieur de *M. anomala* (Fig. 2) montre que les constituants de haut poids moléculaire du mucus (glycoprotéine et protéine) ont disparu. Ils sont remplacés par un ensemble de molécules de taille variable, qui proviennent de l'hydrolyse du mucus et de la matière organique du sol.

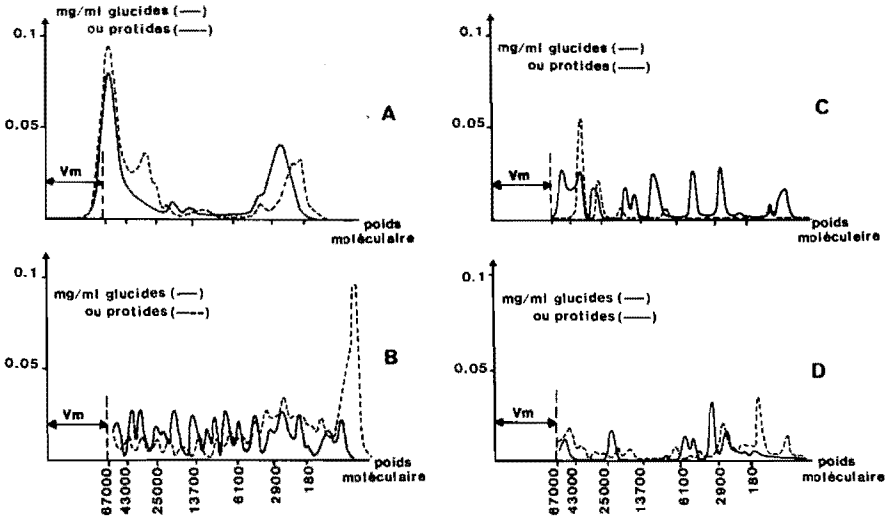

FIG. 3. — Chromatographie sur gel des hydrosolubles des parties I à IV (A à D) de l'intestin chez *Dichogaster terrae-nigrae*.
Vm = Volume mort de la colonne.

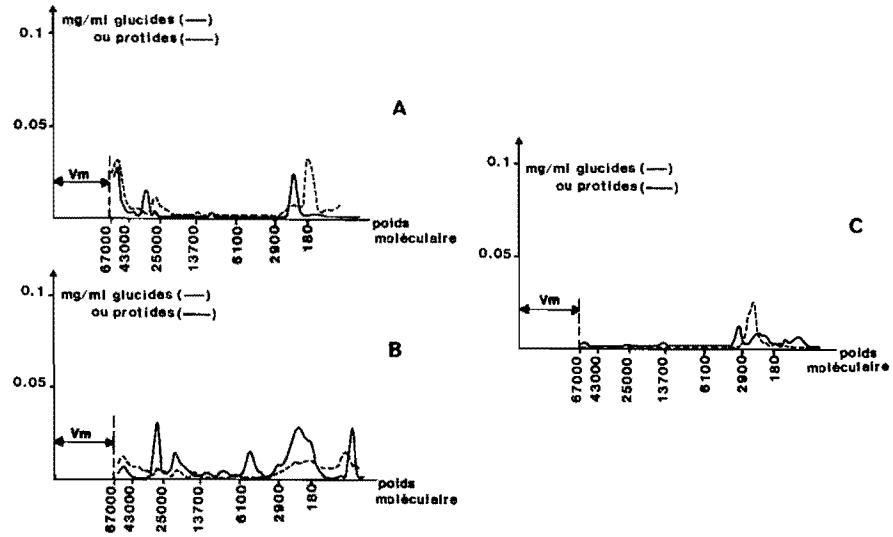

FIG. 4. — Chromatographie sur gel des hydrosolubles de l'intestin antérieur (A), moyen (B) et postérieur (C) chez *Millsonia ghanensis*.
Vm = Volume mort de la colonne.

III. — DISCUSSION

Les résultats obtenus sur cinq espèces de catégories écologiques différentes montrent que la production du mucus au début de l'intestin, est un fait constant de la digestion de la matière organique par les Vers de terre tropicaux. Les analyses réalisées montrent que ce mucus, composé de molécules facilement dégradables et de bonne valeur énergétique, disparaît rapidement au cours du transit intestinal ; cette disparition résulte probablement, en grande partie, de l'activité métabolique des microorganismes du sol. L'explosion de l'activité respiratoire microbienne du sol observée par BAROIS et LAVELLE (1986) dans l'intestin postérieur, apparaît ainsi comme la conséquence logique de ce phénomène.

Ce mucus intestinal est, pour l'essentiel, composé d'une glycoprotéine d'un poids moléculaire voisin de 45 000 daltons et d'un ensemble de petites molécules, osides, peptides et acides aminés. Des différences entre espèces existent mais il sera aussi important de voir si des variations quantitatives et qualitatives de la production de ce mucus n'existent pas chez une même espèce. Des analyses identiques menées sur le mucus cutané permettront de voir si ces deux types de sécrétion, intestinale et tégumentaire, sont qualitativement similaires.

Le mucus intestinal semble ainsi constituer le moteur des interactions Vers de terre — microflore — matière organique ; les microorganismes qui les consomment deviennent capables de dégrader la matière organique du sol par un « priming effect » déjà décrit dans d'autres situations (JENKINSON, 1966). Le Ver peut alors se nourrir des produits de cette digestion libérés dans son tractus digestif.

L'action du mucus au cours de cette interaction est complétée par l'addition d'eau par le Ver à la terre ingérée et le malaxage, conséquence du péristaltisme de la paroi intestinale. La phase solide du sol se trouve ainsi dispersée ce qui favorise l'attaque de la matière organique stable par les microorganismes (BAROIS et LAVELLE, 1986).

Il est possible que le rôle de ce mucus ne se limite pas à celui d'une ressource énergétique facilement assimilable pour la microflore du sol. Certaines protéines mises en évidence par les analyes chromatographiques dans l'intestin antérieur, pourraient être des enzymes lytiques telles que des chitinases (déjà signalées par DEVIGNE et JEUNIAUX (1961) chez des *Lumbricidae*), des cellulases ou des amylases (LEE, 1985). Enfin, une partie de ce mucus, après avoir été hydrolysée, est sans doute directement réabsorbée par le Ver en même temps que les éléments provenant de la dégradation de la matière organique du sol.

Il est certain que la production de mucus représente pour le Ver un très lourd investissement énergétique : en supposant qu'elle soit continue au cours du temps, on peut calculer que *M. anomala* produit chaque jour une quantité de mucus égale à plus de 2 fois son propre poids de matière sèche. Même si l'on considère qu'une partie de ce mucus est directement réassimilée, cette

dépense énergétique colossale doit être compensée par l'efficacité de ce système de digestion mutualiste de la matière organique du sol. De fait, il a été montré que *M. anomala* assimile en une à deux heures (durée du transit intestinal), jusqu'à 9 % de la matière organique du sol ingéré (LAVELLE, 1978).

RÉSUMÉ

Des études précédentes ont montré que le mucus intestinal des Vers de terre pourrait jouer le rôle d'apport énergétique et déclencher l'explosion de l'activité microbienne observée dans le tube digestif des Vers de terre tropicaux et la digestion partielle de la matière organique du sol.

Des différences notables dans le déroulement et le résultat de ces interactions pourraient, en outre, s'expliquer par des variations quantitatives et qualitatives de de la production de mucus.

Dans la présente étude, on caractérise les flux de mucus chez diverses espèces de Vers de terre tropicaux et on montre que :

— la nature chimique de ces mucus en fait un élément facilement métabolisable par la microflore ;

— ils disparaissent de ce fait très vite au cours du transit ;

— la quantité et la qualité des mucus produits varient entre les espèces.

SUMMARY

The production of intestinal mucus by earthworms: A key process in their interactions with the soil microflora

Previous studies have concluded that the production of intestinal mucus is a key process in earthworm digestion. The energetic input it represents explains the flush of microbial activity and subsequent digestion of organic matter observed in the gut.

The qualitative and quantitative variations in mucus production may result in different patterns of earthworms-microflora interactions.

The flow of mucus is characterised qualitatively and quantitatively in different tropical species of earthworms. It is demonstrated that mucus contains easily metabolisable components which disappear rapidly during gut transit and that the quality and the quantity of mucus produced varies according to the species.

BIBLIOGRAPHIE

BAROIS (I.) & LAVELLE (P.), 1986. — Changes in respiration rate and some physicochemical properties of a tropical soil during transit through *Pontoscolex Corethrurus (Glossoscolecidae, Oligochaeta) — Soil Biology and Biochemistry* **18**: 539-541.

BAROIS (I.), 1987. — *Interactions entre les vers de terre* (Oligochaetae) *tropicaux géophages et la microflore pour l'exploitation de la matière organique du sol* — Thèse de l'Université Pierre et Marie Curie, 152 p.

BHATNAGAR (T.), 1975. — *Lombriciens et humification : un aspect nouveau de l'incorporation microbienne d'azote induite par les vers de terre — In:* Biodégradation et Humification, G. Kilbertus, O. Reinsurgir, A. Moury and J.A. Cancela de Fonseca, Eds. pp. 169-182. Pierron, Sarreguemines.

BOUCHÉ (M. B.), 1977. — Stratégies lombriciennes — Soil Organism as Components of Ecosystems, *Ecol. Bull. (Stockolm)*, **25**: 122-132.

DEVIGNE (J.) & JEUNIAUX (C.), 1961. — Origine tissulaire des enzymes chitinolytiques intestinaux des lombrics — *Archives Internationales de Physiologie et de Biochimie*, **69**: 223-234.

DUBOIS (M.), GILLES (K.A.), HAMILTON (J.K.), REBERS (R.A.) & SMITH (S.), 1956. — Coloricmetric method for determination of sugar and related substances, *Anal. Chem.*, **28**: 350-356.

GRANATH (K.A.) & FLODIN (P.), 1961. — Fractionation of dextran by gel filtration — *Makromol. Chem.*, **48**: 160-171.

JENKINSONN (D.S.), 1966. — The use of Isotopes in Soil Organic Matter Studies: The Priming Action — *J. Appl. Radiat. Isotopes, Suppl.; Pergamon Oxford:* 199-208.

LAVELLE (P.), 1981. — Stratégie reproductive chez les Vers de Terre — In *Acta Oecologica*, **2**: 117-133.

LAVELLE (P.), 1984. — The Soil System in the Humic Tropic — *Biology International*, **9**: 2-15.

LAVELLE (P.), KANYONYO (J.) & RANGEL (P.), 1983. — *Intestinal mucus production by two species of tropical earthworms: Millsonia anomala* (Megascolecidae) *and Pontoscolex corethurus* (Glossoscolecidae) — *In:* New Trends in Soil Biology (Ph. Lebrun *et al.*, Eds.), pp, 405-410. Dieu-Brichant, Louvain-la-Neuve.

LAVELLE (P.), ZAIDI (Z.) & SCHAEFER (R.), 1983. — *Interactions between earthworms, soil organic matter and microflora in an African savanna soil — In:* New Trends of Soil Biology (Ph. Lebrun *et al.*, Eds.), pp. 253-261. Dieu-Brichart, Louvain-la-Neuve.

LEE (K.E.), 1983. — *The influence of earthworms and termites on soil nitrogen cycling — In:* New Trends of Soil Biology (Ph. Lebrun *et al.*, Eds.), pp. 35-48. 8th Int. Coll. Soil Zool., Dieu-Brichard, Louvain-la-Neuve.

LEE (K.E.), 1985. — *Earthworms, their ecology and relationships with the soil and land use* — Academic Press, 411 p.

LOWRY (H.O.), ROSEBROUGH (J.N.), FARR (A.L.) & RANDALL (R.J.), 1951. — Protein measurements with the Folin-phenol reagent. *J. Biol Chem.*, **193**: 265-275.

MENAULT (J.C.), BARBAULT (R.), LAVELLE (P.) & LEPAGE (M.), 1985. — *African savannas: biological system of humification and mineralization* — Ecology and management of the world's savannas. Australian Acad. Science, Tothill and Mott (Eds.), pp. 14-33.

SCHAEFER (R.), 1974. — *Activité métabolique du sol : fonctions microbiennes et bilan biogéochimiques In* : Analyse d'un écosystème tropical humide : la savane de Lamto (Côte d'Ivoire). Bull. de liaison des chercheurs de Lamto n° spécial, V, 167-187.

ZAIDI (Z.), 1985. — *Recherches sur les modalités de l'interdépendance nutritionnelle entre Vers de terre et Microflore dans la savane guinéenne de Lamto (Côte d'Ivoire) ; esquisse d'un système interactif* — Thèse 3e cycle, Université Paris XI.